

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 07242837
PUBLICATION DATE : 19-09-95

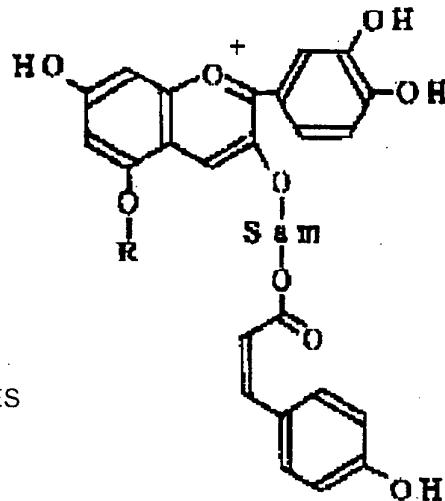
APPLICATION DATE : 02-03-94
APPLICATION NUMBER : 06054766

APPLICANT : T HASEGAWA CO LTD;

INVENTOR : TAMURA ITARU;

INT.CL. : C09B 61/00 A23L 1/27

TITLE :
CYANIDIN-3-Z-P-COUMAROYL-SAMBUBIOSIDES
AND THEIR PRODUCTION



ABSTRACT : PURPOSE: To obtain a new compound stable to light, oxygen, heat, etc., hardly causing discoloration or fading with the passage of time and useful for coloring foods and drinks, perfumes and cosmetics, medicines, etc., and belonging to antracyanine-based coloring matter.

CONSTITUTION: Cyanidin-3-Z-p-cumaroyl-sambubiosides, e.g. cyanidine-3-(Z-P-coumaroyl-sambioside) which is a compound of the formula wherein R is H and cyanidin-3-(Z-P-coumaroyl-sambubioside)-5-glucoside which is a compound of the formula wherein R is glycosyl group. The compound of the formula is obtained by irradiating an extract of fruit of *Sambucus canadensis* and/or cyanidin-3-(E-P-coumaroyl-sambubioside)-5-glucoside prepared from the extract with visible rays and/or ultraviolet rays having about 5 to about 500 lengley.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-242837

(43)公開日 平成7年(1995)9月19日

(51)Int.Cl.⁶

C 09 B 61/00
A 23 L 1/27

識別記号

府内整理番号

C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 2 FD (全 7 頁)

(21)出願番号 特願平6-54766

(22)出願日 平成6年(1994)3月2日

(71)出願人 000214537

長谷川香料株式会社

東京都中央区日本橋本町4丁目4番14号

(72)発明者 中谷 延二

大阪府大阪市東淀川区東中島1-17-5-640

(72)発明者 菊崎 泰枝

大阪府大阪市平野区平野本町4-8-23

(72)発明者 稲波 治

神奈川県川崎市中原区西宿335 長谷川香料株式会社技術研究所内

(74)代理人 弁理士 小田島 平吉 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 シアニジン-3-Z-p-クマロイルーサンブビオシド類およびその製法

(57)【要約】

【目的】 本発明の目的は、長期間保存しても褪色しない、熱、光などに対して安定なアントシアニン系色素に属する新規化合物であるシアニジン-3-Z-p-クマロイルーサンブビオシド類を提供することにある。

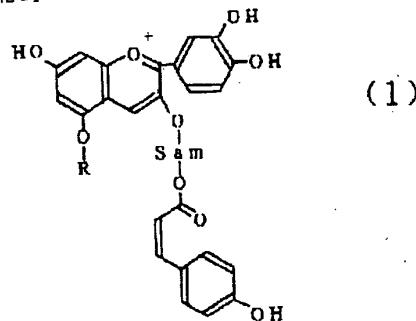
【構成】 本発明によれば、エルダーベリー果実よりアントシアニン色素を抽出後、その抽出液に可視光線及び/又は紫外線を照射して、シアニジン-3-Z-p-クマロイルーサンブビオシド類を生成させるとともに、カラムクロマト分取などの分離・精製手段を用いて単離することができる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式(1)

【化1】



式中、RはHまたはグリコシル基を示し、Samは2-O- β -D-キシロビラノシリル- β -D-グルコビラノシリル基を示す、で表されるシアニジン-3-Z-p-クマロイル-サンブピオシド類。

【請求項2】 シアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシドを含有する色素液に可視光線及び/又は紫外線を約5 langleyないし、約500 langleyの範囲内の照射量で照射することにより請求項1記載の式(1)の化合物を生成せしめることを特徴とする、色価の高い色素液の製法。

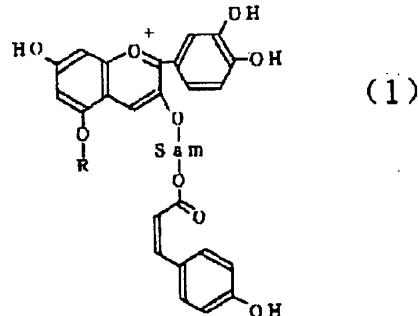
【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、熱、光などに対して安定で長期間保存しても褪色しないアントシアニン系色素に属する新規な下記式(1)

【0002】

【化2】



【0003】 式中、RはHまたはグリコシル基を示し、Samは2-O- β -D-キシロビラノシリル- β -D-グルコビラノシリル基を示す、で表されるシアニジン-3-Z-p-クマロイル-サンブピオシド類、すなわち、式(1)中RがHであるシアニジン-3-(Z-p-クマロイル-サンブピオシド)【以下、(A)化合物と称する】および式(1)中Rがグルコシル基であるシアニジン-3-(Z-p-クマロイル-サンブピオシド) -

2

5-グルコシド【以下、(B)化合物と称する】に関する。

【0004】 さらに、本発明は、シアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシド【以下、(C)化合物と称する】を含有する色素液に、可視光線及び/又は紫外線を約5 langleyないし約500 langleyの範囲内の照射量で照射することにより(A)化合物及び/又は(B)化合物を生成せしめることを特徴とする色価の高い色素液の製法に関する。

10 【0005】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 従来、(A)化合物および(B)化合物と構造類似のアントシアニン系色素としては、例えばエルダーベリー(Sambucus属)の果実から抽出、単離されたシアニジン-3-サンブピオシド-5-グルコシド、シアニジン-3-グルコシド-5-グルコシド、シアニジン-3-サンブピオシド、シアニジン-3-グルコシド、シアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシド等が知られている[Phytochemistry 30, (12), 4137~4141(1991)]。

【0006】 しかしながら、これら従来公知のアントシアニン系色素は、例えば光、酸素、熱などに対する安定性において必ずしも満足できるものではなく、経時に色調の変化ならびに褪色などを伴うという使用上の欠点がある。

【0007】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、従来からエルダーベリーの果実から抽出したアントシアニン系色素について研究を行ってきた。その結果、安定な色素であるシアニジン-3-E-p-クマロイル-サンブピオシドを新たに見いだし、先に提案した(特願平5-265530号明細書)。その後、更に研究を進めた結果、エルダーベリー抽出物に可視光線及び/又は紫外線を照射すると、抽出物全体の色価が上昇する事実を見いだした。その原因を究明すべく、シアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシドを含有する色素液に可視光線及び/又は紫外線を照射したものをHPLC分析、NMR等により調べた結果、該色素中に新規化合物である(A)化合物および(B)化合物

40 が生成していることを見いだした。さらに、これらの化合物は光、酸素、熱などに対して安定であり、経時に色調の変化ならびに褪色などを伴わず、各種製品の着色剤として有用であることを見いだし本発明を完成了した。

【0008】 従って、本発明の主たる目的は、光、酸素、熱などに対して安定であり、経時に色調の変化ならびに褪色の少ない(A)化合物および(B)化合物並びにそれらの製法を提供することである。また、本発明の他の目的は、該化合物を用いた、飲食品、香粧品、医薬などの各種製品を着色するのに有用な着色剤を提供

することである。

【0009】本発明によれば、(A) 化合物および(B) 化合物は、カナダ原産のエルダーベリー(Sambucus canadensis)の果実の抽出物中にも微量含有されているが、該抽出物及び/又はシアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシド [(C) 化合物] に、可視光線及び/又は紫外線を照射したものをカラムクロマトグラフィー、分取HPLC等により分離・精製することにより、容易に単離することができる。以下、本発明について更に具体的に説明する。エルダーベリー果実からの抽出物の調製は、例えば、細断した果実1重量部に対して約3～約10重量部の酸性水溶液又は酸性アルコール溶液を加え、約10～約60℃の温度で約0.5～約4時間静置または攪拌条件下で抽出処理することにより行うことができる。酸性水溶液又は酸性アルコール溶液に使用し得る酸としては、例えば、塩酸、クニッケ酸、硝酸、リン酸、酢酸などをまた、アルコールとしては、例えば、メタノール、エタノールなどを挙げることができる。

【0010】一方、(C) 化合物の調製は例えば、次のようにして行うことができる：まず、上記した如き方法により得られる抽出物を溶媒に収して濃縮液とする。該濃縮液を水と酢酸エチル、ニチルエーテル等の有機溶媒との間で分配する。水溶性である(C) 化合物を含有する水層部を、MC1ゲル、SP-207、HP-20(以上三巻化成)、アンバーライトXAD-2、アンバーライトXAD-4(以上Rohm & Haas社)などの多孔性合成吸着剤を充填したクロマトカラムに吸着させた後、水で洗浄して脱塩・脱糖を行い、次に、0.1～1%の塩酸、リン酸、トリフルオロ酢酸などの酸を含むメタノール、エタノールなどの低級アルコール、またはメタノール、エタノールなどの低級アルコールで溶出させて、(A) 化合物または(B) 化合物を含有する粗色素溶液をそれぞれ分離する。

【0013】次いで上記の(A) 化合物を含有する粗色素溶液を、例えば、Develosil ODS-5(野村化学)、Capcell Pak C-18(資生堂)、Puresil(Waters社)などの市販のカラムを用いるHPLCにより分取精製することにより、高純度に精製された(A) 化合物を得ることができる。また、(B) 化合物を含有する粗色素溶液についても同様の操作を行うことにより、高純度に精製された(B) 化合物を得ることができる。HPLCは(Φ25×250mm)のカラムを用い、勾配溶出法(溶離液A: 0.5% H₃PO₄、溶離液B: 0.5% H₃PO₄、39.5% H₂O、60%テトラヒドロフラン)により行い、また(A) および(B) 化合物の構造は、UV-VISスペクトル、NMR測定などにより解析を行うことができる。

【0014】上記の如き方法で得られる(A) 化合物および(B) 化合物は、光、酸素、熱などに対して安定であり、経時的にも色調の変化ならびに褪色の少ない水溶性アントシアニン系色素として、飲食品、香粧品、医薬などの各種製品の着色剤として有用である。特に(A) 化合物および(B) 化合物はそれぞれの化合物の異性体であるシアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド) [(D) 化合物およびシアニジン-3-(E-p-クマロイル-サンブピオシド)-5-グルコシド] に比べ、熱安定性が高い。

【0015】(A) 化合物および(B) 化合物を着色剤として使用する場合の使用形態は、特に制約されるものではなく、例えば、(A) 化合物および(B) 化合物は

単独で使用する他、適当な希釈剤もしくは担体との組成物の形態で使用することもできる。このような希釈剤もしくは担体としては、例えば、アラビアガム、デキストリン、グルコース、シュークロースなどの固体希釈剤もしくは担体；また水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリン、界面活性剤などの液体希釈剤もしくは担体を例示することができる。

【0016】本発明の(A)化合物および(B)化合物は、任意の剤形で利用することができ、例えば、粉末状、顆粒状、液状、乳化液状、ペースト状その他適宜の剤形であることができる。例えば、アラビアガム、デキストリンなどを添加して粉末状、顆粒状などの剤形で使用してもよく、また、例えば、エタノール、プロピレングリコール、グリセリンあるいはこれらの混合物に溶解して液状剤形として使用することもできる。

【0017】酸性側のpHで安定な本発明(A)化合物および(B)化合物は、光、酸素、熱などに対して安定であり、該色素を各種製品に添加配合することによって、該製品の光、酸素、熱などによる褪色を効果的に防止することができ、長期間安定に色調を保持することができる。このような製品としては、飲食物・嗜好品類、餌飼料類、保健・医薬品類、香粧品類などを挙げることができる。例えば、無果汁飲料、果汁入り飲料、乳酸菌飲料、粉末飲料などの飲料類；アイスクリーム、シャーベット、氷菓などの冷菓類；プリン、ゼリー、パッロア、ヨーグルトなどのデザート類；その他ドロップ、キャンディー、チョコレート、飴、畜肉加工食品、焼肉のたれ、漬物などのごとき飲食品・嗜好品類；鉛剤、液状*

*絞口薬、粉末状の絞口薬、温布薬などのごとき保健・医薬品類；あるいは例えば、石鹼、洗剤、シャンプーの着色のごとき香粧品類の着色剤として有用である。

【0018】以下、実施例により本発明について更に具体的に説明する。

【0019】

【実施例】

実施例1

*Sambucus canadensis*の凍結果実1.0kgに0.1%HCl-MeOH 1000mlを添加し、半量ずつ、2回に分けてワーリングブレンダーで粉碎した。次いで、該粉碎物に0.1%HCl-MeOH 3000mlを加え、35℃に保ちながら2時間攪拌抽出を行った。抽出後、直ちに粉末セルロース（市販品：ダイヤフロック）を助剤として濾過し、(C)化合物を含有する濾液3750gを得た。濾液は35～45℃の温度で減圧濃縮し、濃縮液850gを得た。

【0020】実施例2

実施例1で得られた濃縮液850gを2リットル容三角フラスコにいれ、市販の紫外線発生装置（スガ試験機（株）社製紫外線フェードメーター）を用い、1時間、250 langleyの照射を行った。表1に照射量と色価の関係および分析により求められた各色素化合物の量を示す。なお、色価の測定は照射後の濃縮液を250倍に希釈して行い、各色素化合物の量はHPLC分析におけるそれぞれのピーク面積で示す。

【0021】

【表1】

表1：照射量と色価の変化

色価	照射量 (langley)				
	0	1.9	3.9	9.7	24.5
(C) 化合物	0.499	0.644	0.631	0.609	0.547
(A) 化合物	0.109	0.062	0.055	0.050	0.032
(B) 化合物	0	trace	0.002	0.003	0.006
(D) 化合物	0	0.044	0.040	0.038	0.024
	0	trace	0.004	0.007	0.017

表1に示すように、1.9 langley照射後の色価は無照射のものに比べ、約30%の色価の上昇が認められた。無照射のものは(C)化合物のみであったが、照射により(A)化合物、(B)化合物、(D)化合物の生成がみられる。

【0022】実施例3

実施例1で得られた濃縮液850gに酢酸エチル500mlを加え分配して、脂溶性物質等を除去する操作を3回行った。得られた色素液を多孔性合成吸着剤であるSP-207の300mlを充填したカラムに通液し、色素を吸着した後、水で洗浄して脱脂、脱糖を行った。次に、1%トリフルオロ酢酸-MeOH 600mlで溶出した後、メタノールを留去して粗色素を得た。次に粗色素をHPLCにより分取精製した。HPLCはCapcell P 50

a k C₁₈ (φ25×250mm) のカラムを用い、勾配溶出法（溶離液A：0.5%H₃PO₄、B：0.5%H₃PO₄、3.9.5%H₂O、6.0%Tetrahydrofuran）により行い、(A)化合物および(B)化合物を含有する色素溶液をそれぞれ分離した。

【0023】実施例4

分離された色素溶液のうち一方は、UVスペクトルを調べたところ、可視部最大吸収波長が525nm付近でAlCl₃添加により長波長側にシフトしたことから、アントシアニジン骨格のB環がオルトジフェノール構造であることが示唆された。また、E₄₄₀/E₃₁₅ (%) のデータから3位のみが糖と結合していると推定した。315nmにも吸収をもつことから、ケイ皮酸タイプのアシル基の存在が示唆され、E₃₁₅/E₂₈₅ (%) の値から分子内

7

にアシル基を1個有するものと推定した。S I M Sの結果から2個の糖を有すると考えられた。

【0024】実施例5

さらに上記化合物の¹H-¹H COSYスペクトル解析の結果、シアニジン骨格を有し、アシル基としてcis-p-coumaroyl基1分子を有すること、および、分子内にグルコース1分子とキシロース1分子が存在し、それぞれ β 結合していることが明らかとなった。また、シアニジン骨格の3位にグルコースが結合しており、その2位がキシロシル化、6位がアシル化、すなわち、cis-p-coumaroyl基が結合していることが判明し、UV-VIS、S I M S測定の結果と合わせて、上記化合物は、cyanidin-3-O-(6- β -p-coumaroyl-2-O- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside、すなわち(A)化合物と構造決定した。表2に、¹H-NMRスペクトルデータを示す。

【0025】実施例6

実施例4で分離されたもう一方の化合物のUVスペクトルを調べたところ、可視部最大吸収波長が525 nm附近でAlCl₃添加により長波長側にシフトしたことから、アントシアニジン骨格のB環がオルトジフェノール構造であることが示唆された。また、E₄₄₀/E₅₁₅ (%)のデータから3位および5位が糖と結合していると推定し

た。3.15 nmにも吸収をもつことから、ケイ皮酸タイプのアシル基の存在が示唆され、E₄₄₀/E₅₁₅ (%)の値から分子内にアシル基を1個有するものと推定した。S I M Sの結果から、この化合物は3個の糖を有すると考えられた。

【0026】実施例7

さらに上記化合物の¹H-¹H COSYスペクトル解析の結果、シアニジン骨格を有し、アシル基としてcis-p-coumaroyl基1分子を有すること、および、分子内にグルコース2分子とキシロース1分子が存在し、それぞれ β 結合していることが明らかとなった。また、シアニジン骨格の5位にグルコース1分子が、さらに3位にグルコースがもう1分子結合していたが、その2位がキシロシル化、6位がアシル化、すなわち、cis-p-coumaroyl基が結合していることが判明し、UV-VIS、S I M S測定の結果と合わせて、上記化合物は、cyanidin-3-O-(6- β -p-coumaroyl-2-O- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl-5-O- β -D-glucopyranoside、すなわち(B)化合物と構造決定した。以下に、¹H-NMRスペクトルデータを示す。

【0027】

【表2】

表2: ¹H-NMR spectral data[(CD₃)₂SO:CF₃COOD=9:1; 400MHz; room temp.; δ(ppm) J(Hz)]

	(A) 化合物	(B) 化合物
Cyanidin		
4	8.78 s	8.65 s
6	6.75 d 1.8	6.97 d 1.8
8	6.83 d 1.8	7.00 d 1.8
2'	8.00 d 1.8	8.03 d 1.8
5'	7.06 d 8.5	7.06 d 8.6
6'	8.30 dd 8.5, 1.8	8.33 dd 8.6, 1.8
Glucose-A		
1	5.69 d 7.9	5.72 d 7.3
2	3.96 dd 8.5, 7.9	4.03 dd 8.5, 7.3
3	3.71 dd 9.4, 8.5	3.72 dd 9.8, 8.5
4	3.38 t 9.4	3.37 t 9.8
5	3.9 m	3.97 br dd 9.8, 8.6
6 a	4.26 dd 12.2, 7.9	4.21 dd 12.2, 8.6
6 b	4.45 br d 12.2	4.43 br d 12.2
Glucose-B		
1		5.13 d 7.9
2		3.55 dd 9.2, 7.9
3		3.40 t 9.2
4		3.30 t 9.2
5		3.55 dd 9.2, 4.9
6 a		3.66 dd 11.6, 4.9
6 b		3.85 br d 11.6
Xylose-C		
1	4.71 d 7.3	4.72 d 7.9

9

2	3.03 dd 8.6, 7.3	3.00 dd 8.5, 7.9
3	3.16 dd 9.8, 8.6	3.14 dd 9.8, 8.5
4	3.28 td 9.8, 5.5	3.23 td 9.8, 5.5
5 a	3.52 dd 11.0, 5.5	3.52 dd 11.4, 5.5
5 b	2.95 dd 11.0, 9.8	2.93 dd 11.4, 9.8
7 - p - Coumaroyl		
2", 6"	7.53 d 9.2	7.52 d 9.2
3", 5"	6.66 d 9.2	6.62 d 9.2
7" (a)	6.72 d 12.8	6.85 d 12.8
8" (b)	5.76 d 12.8	5.79 d 12.8

実施例 8

実施例 1 で得られた濃縮液 850 g に酢酸エチル 500 ml を加え分配して、脂溶性物質等を除去する操作を 3 回行った。得られた色素液を多孔性合成吸着剤である SP - 207 の 300 ml を充填したカラムに通液し、色素を吸着した後、水で洗浄して脱塩・脱糖を行った。次に、1 % トリフルオロ酢酸 - MeOH 600 ml で溶出した後、メタノールを留去して粗色素を得た。次に粗色素を HPLC により分取精製した。HPLC は Capcell Pak C₁₈ (φ25×250mm) のカラムを用い、勾配溶出法 (溶離液 A : 0.5% H₃PO₄、B : 0.5% H₃PO₄、39.5% H₂O、60% Tetrahydrofuran) に*

* より行い、色素を単離した。単離された色素は UV、SIMS、NMR 等の測定データから、(C) 化合物であることが確認された。

【0028】実施例 9

実施例 8 で単離された (C) 化合物を 0.2% クエン酸緩衝液 (pH 3.0) に溶解、希釈したもの実施例 2 と同様な方法で照射を行った。表 3 に照射量と色価の関係および分析により求められた各色素化合物の量を示す。なお、各色素化合物の量は HPLC 分析におけるそれぞれのピーク面積で示す。

【0029】

【表 3】

表 3 : 照射量と色価の変化

照射量 (langley)

色 価	0	2.0	4.1	9.8	24.3
(C) 化合物	0.649	0.842	0.826	0.801	0.723
(A) 化合物	0.138	0.080	0.071	0.063	0.043
(B) 化合物	0	trace	0.002	0.004	0.008
(D) 化合物	0	0.060	0.060	0.057	0.034
	0	trace	0.004	0.010	0.022

表 3 に示すように、20 langley 照射後の色価は無照射のものに比べ、約 30% の色価の上昇が認められた。無照射のものは (C) 化合物のみであったが、照射により (A) 化合物、(B) 化合物、(D) 化合物の生成がみられる。

【0030】実施例 10

実施例 9 で得られた照射後の色素液 3 kg を多孔性合成吸着剤である SP - 207 100 ml を充填したカラムに通液し、色素を吸着した後、水で洗浄して脱塩・脱糖を行った。次に、1 % トリフルオロ酢酸 - MeOH 200 ml で溶出した後、メタノールを留去して粗色素を得た。次に粗色素を HPLC により分取精製した。HPLC は Capcell Pak C₁₈ (φ25×250mm) のカラムを用い、勾配溶出法 (溶離液 A : 0.5% H₃PO₄、B : 0.5% H₃PO₄、39.5% H₂O、60% Tetrahydrofuran) により行い、(A) 化合物および (B) 化合物を含有する粗色素溶液をそれぞれ分離した。

【0031】実施例 11

実施例 10 で得られた 2 種の粗色素溶液について実施例 4～7 に示した操作を行い、UV-VIS、SIMS 測定、NMR の結果と合わせて、分離された色素は (A) 化合物および (B) 化合物と構造決定した。これとは別に HPLC 分析と従来の報告より、照射後の色素液中には (D) 化合物の生成も確認された。すなわち、照射により (C) 化合物から (A) 化合物、(B) 化合物、(D) 化合物の 3 つが生成することが確認された。

【0032】実施例 12

実施例 8 で得られたアントシアニジン骨格の 3 位に結合するクマル酸がトランス型に結合している (C) 化合物と、実施例 3 で得られたシス型の異性体である (B) 化合物の熱安定性について測定を行った。 (C) 化合物および (B) 化合物を 0.2 M クエン酸緩衝液 (pH 3.0) に溶解し、80°C の恒温槽に入れ、60 分間の色価の経時変化を測定した。表 4 に結果を示す。

【0033】

【表 4】

表 4 : 色価の経時変化

時間 (min)

(7)

特開平7-242837

11

12

	0	15	30	60
(C) 化合物	0.748	0.540	0.535	0.532
(B) 化合物	0.752	0.575	0.566	0.563

表4に示したようにシス型である(B) 化合物の色価は
80℃、60分までの保存に対し、(C) 化合物に比
べ、約5%高く、熱安定性が優れていた。

【0034】

【発明の効果】本発明は、熱、光などに対して安定なア

ントシアニン系色素に属する新規化合物であるシアニジ
ン-3-Z-p-クマロイル-サンブビオンド類を提供
するものである。該化合物を、飲食品、香粧品、医薬な
どの各種製品に配合して、長期間保存しても褪色しない
着色剤を得ることができる。

フロントページの続き

(72)発明者 木下 秀子

神奈川県川崎市中原区苅宿335 長谷川香
料株式会社技術研究所内

(72)発明者 田村 至

神奈川県川崎市中原区苅宿335 長谷川香
料株式会社技術研究所内